

## ex vivo 発がん実験系を用いた、肺がんにおけるピルビン酸キナーゼ<sup>M</sup>の機能解析

著者	佐藤 卓
号	86
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3634号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00123315">http://hdl.handle.net/10097/00123315</a>

氏 名	さとう たく 佐藤 卓
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	ex vivo 発がん実験系を用いた、肺がんにおけるピルビン酸キナーゼ M の機能解析
論文審査委員	主査 教授 岡田 克典 教授 島 礼 教授 一ノ瀬 正和 教授 進藤 千代彦

## 論文内容要旨

癌のエネルギー代謝に重要な役割を果たすとされる解糖系酵素ピルビン酸キナーゼ M (Pkm) には二つのサブタイプ Pkm1、Pkm2 が存在する。多くの癌で主に発現する Pkm2 が、腫瘍促進的に働くと考えられるが、不明の点も多い。肺がんにおける Pkm の機能解析のため、Pkm の発現を Pkm1 または Pkm2 に限定したノックインマウス由来の肺上皮細胞を用いた実験を行った。大腸上皮細胞の培養などに用いられている、細胞外マトリックス製剤を使用した 3 次元培養法により、マウス肺上皮細胞を単離し、長期培養することができた。次に、3 次元培養のマウス肺上皮細胞に SV40LargeT 抗原および活性化型 Kras、または活性化型 EGFR (epidermal growth factor receptor ; 上皮増殖因子受容体) の遺伝子を導入することで、形質転換することができた。これらの腫瘍細胞の生存・増殖は、導入した活性化型癌遺伝子 (KrasG12V、EGFRex19del) に強く依存していた。従って、このシステムを用いて生体内の肺発がんを ex vivo で再現できることが示唆された。ヌードマウスへの移植実験では、活性化型 Kras、活性化型 EGFR のどちらの遺伝子導入細胞でも、PkmM1/M1 肺上皮細胞由来の腫瘍が、PkmM2/M2 肺上皮細胞由来の腫瘍よりも腫瘍形成、増大で優っていた。これらの結果から、Kras または EGFR 遺伝子変異型を有する肺がんの代謝において、Pkm1 が Pkm2 よりもむしろ腫瘍促進的に働くことが示唆された。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 ex vivo 発がん実験系を用いた、肺がんにおけるピルビン酸キナーゼ M の機能解析

所属専攻・分野名 医科学専攻 ・ 呼吸器外科学分野

学籍番号 B3MD5065 氏名 佐藤 卓

解糖系酵素であるピルビン酸キナーゼ M (Pkm) の 2 つのサブタイプ (Pkm1、Pkm2) のうち、多くの癌で優位に発現している Pkm2 が腫瘍促進的と考えられていたが、近年、反する結果も報告されていた。本研究では、世界的に増加傾向にある肺がんにおける Pkm の機能解析のため、Pkm の発現を Pkm1 または Pkm2 に固定化したノックインマウスに由来する肺上皮細胞を用いた実験を行った。大腸上皮細胞などの培養に用いられる 3 次元培養法を用いて、マウス肺上皮細胞を単離し、長期培養した報告は、本研究が初めてとなる。3 次元培養を行ったマウス肺上皮細胞に SV40LargeT 抗原および活性化型 Kras、または活性化型 EGFR (epidermal growth factor receptor; 上皮増殖因子受容体) を遺伝子導入し、形質転換に成功した。これら腫瘍細胞の生存・増殖が、導入した癌遺伝子に強く依存していたことが確認されたことから、本研究で開発された手法・実験系で、生体内の肺発がんを体外にて簡便に再現できることが示唆された。この実験系は、遺伝子改変マウス由来の細胞の解析など、様々な実験に応用が可能である。また、この研究以前に、明確な Pkm 発現の固定化を行った報告はなかったが、本研究では、Pkm の発現を Pkm1 または Pkm2 に固定化したマウスを用いたことも、評価すべき点の一つである。免疫不全マウスへの移植実験で、活性化型 Kras、活性化型 EGFR のいずれの遺伝子導入細胞を移植しても、Pkm<sup>M1/M1</sup> 肺上皮細胞由来の腫瘍が、Pkm<sup>M2/M2</sup> 肺上皮細胞由来の腫瘍よりも腫瘍形成、増大で優っていたことから、Pkm1 が Pkm2 よりもむしろ腫瘍促進的に働くことが示唆された。本研究の結果は、がんのエネルギー代謝に重要とされる Pkm1、Pkm2 の腫瘍に対する作用について、肺がんにおける結論を提示するものであり、発がん・腫瘍増殖におけるエネルギー代謝研究の進展に大きく貢献し、肺がんの治療的アプローチへの新たな展開も期待される、極めて新規性に富む優れた研究であると考えられる。

よって、本論文は博士(医学)の学位論文として合格と認める。